

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
REGIONAL JATAÍ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**ADIÇÃO DE BACTÉRIAS HOMOFERMENTATIVAS E
CELULASE NA ENSILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Lara Rodrigues de Queiroz Carvalho

Zootecnista

JATAÍ – GOIÁS – BRASIL

JULHO DE 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
REGIONAL JATAÍ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**ADIÇÃO DE BACTÉRIAS HOMOFERMENTATIVAS E
CELULASE NA ENSILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Lara Rodrigues de Queiroz Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Edgar Alain Collao-Saenz

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Vera Lúcia Banys

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Goiás – Regional Jataí, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

JATAÍ – GOIÁS – BRASIL

JULHO DE 2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Rodrigues de Queiroz Carvalho, Lara
ADIÇÃO DE BACTÉRIAS HOMOFERMENTATIVAS E CELULASE
NA ENSILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR [manuscrito] / Lara Rodrigues
de Queiroz Carvalho, Edgar Alain Collao-Saenz, Vera Lúcia Banys. -
2017.
42 f.

Orientador: Prof. Edgar Alain Collao-Saenz; co-orientador Vera
Lúcia Banys.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Unidade
Acadêmica Especial de Ciências Agrárias, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, Jataí, 2017.

1. degradabilidade. 2. enzima fibrolítica. 3. L. plantarum. 4. P.
pentosaceus. I. Alain Collao-Saenz, Edgar . II. Lúcia Banys, Vera. III.
Alain Collao-Saenz, Edgar , orient. IV. Lúcia Banys, Vera, co-orient.
V. Título.

CDU 635



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
REGIONAL JATAÍ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
PRODUÇÃO VEGETAL

ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE LARA RODRIGUES DE QUEIROZ CARVALHO. Aos trinta e um dias do mês julho do ano de dois mil e dezessete (31/07/2017), às 13h30 min, reuniu-se no auditório do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Regional Jataí da UFG, A Banca Examinadora, composta pelos Professores Doutores: Edgar Alain Collao Saenz, Márcia Dias e André Luis da Silva Valente sob a presidência do primeiro, procederem na forma da resolução vigente a Defesa de Dissertação” de LARA RODRIGUES DE QUEIROZ CARVALHO, discente do PPGA, curso de Mestrado, área de concentração em Produção Vegetal. Prova oral versou sobre o tema de sua dissertação com o título: **“ADIÇÃO DE BACTÉRIAS HOMO FERMENTATIVAS E CELULASE NA ENSILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR”**. A sessão foi aberta pelo Presidente da Banca Examinadora, Prof. Dr. Edgar Alain Collao, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra a seguir, foi concedida ao autor da dissertação que, entre 30 a 45 minutos procedeu a apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu o examinando, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo em vista a Resolução nº.1143/2013 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Agronomia e procedidas às correções recomendadas A Comissão Examinadora emitiu seu parecer sobre a defesa realizada pela discente, considerando-a **(X) APROVADA () REPROVADA** por unanimidade, a “Defesa de Dissertação” para fins da obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA pela Universidade Federal de Goiás. Lembrando que o encerramento deste processo avaliativo se dará após a entrega da versão definitiva da dissertação com as devidas correções sugeridas pela Banca Examinadora, bem como a entrega do artigo científico ou comprovante de submissão do mesmo em periódico nacional e, ou, internacional, depois de procedidas as modificações sugeridas em detrimento da autorização do Professor Orientador.

Cumpridas as formalidades de pauta, às 16:15 horas, o Prof. Dr. Edgar Alain Collao Saenz, Presidente da Banca Examinadora encerrou a sessão, e para constar, lavrou-se a ATA, assinada em quatro vias de igual teor.


Prof. (a) Dr(a) Edgar Alain Collao Saenz
Presidente da Banca -UFG


Prof. (a) Dr(a) Márcia Dias
Membro titular interno da Banca - UFG


Prof. (a) Dr(a) André Luis da Silva Valente
Membro titular externo da Banca - UFG

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LARA RODRIGUES DE QUEIROZ CARVALHO – nascida no dia 12 de junho de 1989, na cidade de Jataí, Goiás, filha de Fábio Rodrigues Carvalho e Deroni Rodrigues de Queiroz Carvalho. Iniciou o Curso de Zootecnia na Universidade Federal de Goiás – Regional Jataí no mês de fevereiro de 2008 e obteve o título de Bacharel em Zootecnia em abril de 2013. Em março de 2015 ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Agronomia na Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí, sob a orientação do Prof. Dr. Edgar Alain Collao Saenz. Em julho de 2017 submeteu-se à banca examinadora para a Defesa Final da Dissertação, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

SUMÁRIO

	PÁGINA
RESUMO	2
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO.....	4
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Ensilagem de forrageiras.....	6
2.2 Silagem de cana-de-açúcar	8
2.3 Aditivos bacterianos.....	10
2.4 Aditivos enzimáticos	11
2.5 Degradabilidade “ <i>in situ</i> ”.....	13
2.6 Estabilidade aeróbica de silagem	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5. CONCLUSÃO	34
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

ADIÇÃO DE BACTÉRIAS HOMOFERMENTATIVAS E CELULASE NA ENSILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de dois períodos de fermentação junto com inoculante bacteriano e/ou enzima fibrolítica no valor nutricional da silagem de cana-de-açúcar. A cana-de-açúcar foi acondicionada em minissilos com capacidade de 5L e densidade média de 830 kg/m³. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições, em esquema fatorial 2 x 3 x 2. Dois períodos de fermentação (30 e 100 d), três doses de enzima celulase (0, 3 e 6%) e aplicação ou não de inoculante bacteriano (*Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus pentosaceus*, 2,5 x 10¹⁰UFC/g). Foram avaliados composição bromatológica, nutrientes digestíveis totais (NDT), degradabilidade da matéria seca (MS) e da fibra em detergente neutro (FDN) e taxa de estabilidade. O inoculante bacteriano e a enzima celulase não afetaram significativamente o pH, MS, matéria orgânica (MO) e hemicelulose, no entanto, estas variáveis foram afetadas pelo período de fermentação onde, a MS diminuiu (P<0,05) de 22 para 17%, MO de 96% para 95% e hemicelulose de 25,8 para 20,9% e o pH aumentou de 3,3 para 3,4. A acidez titulável e os teores de FDN e FDA tiveram interação tripla entre os fatores estudados. O tratamento com 100 dias de fermentação sem inoculante e 6% de celulase teve a melhor resposta na acidez titulável (21,6 ml). Os teores de FDN, FDA e NDT tiveram maior resposta no maior período de fermentação (100 dias) com adição de 6% de celulase sem inoculante bacteriano (44,9, 27,2 e 64,0% para FDN, FDA e NDT respectivamente). A maior degradabilidade potencial da MS foi aos 100 dias de fermentação. A concentração de 3% de celulase associada ao inoculante aumentou a degradabilidade potencial da MS de 65,9 para 73,1% aos 100 dias de fermentação. Houve maior degradabilidade efetiva da MS e diminuição da degradabilidade da FDN nos tratamentos com adição de celulase. O inoculante favoreceu a taxa de estabilidade aeróbica. Houve interação dupla da celulase x período em que maior estabilidade foi aos 30 dias sem adição de celulase. A adição de um inoculante bacteriano ou enzima celulase foi eficiente em melhorar o valor nutricional da silagem de cana-de-açúcar, com melhor resultado quando usados de forma independente.

Palavras-chave: degradabilidade, enzima fibrolítica, *L. plantarum*, *P. pentosaceus*

ADDITION OF HOMO FERMENTATIVE BACTERIA AND CELLULASE IN THE SUGAR CANE SILAGE

ABSTRACT

The present work was carried out with the objective of evaluating the effect of two fermentation periods with bacterial inoculant and/or fibrolytic enzyme addition on the nutritional value of sugarcane silage. The sugar cane was conditioned in minisilos with 5L capacity and average density of 830 kg/m³. The experimental design was completely randomized with three replicates, in a 2 x 3 x 2 factorial scheme. Two fermentation periods (30 and 100 d), three cellulase enzyme doses (0, 3 and 6%) and addition or not of inoculant bacterial (*Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus pentosaceus*, 2.5 x 10¹⁰UFC/g). Chemical composition, total digestible nutrients (TDN), degradability of dry matter (DM) and neutral detergent fiber (NDF) and stability rate were evaluated. The bacterial inoculant and the cellulase enzyme did not significantly affect pH, DM, organic matter (OM) and hemicellulose, however, these variables were affected by the fermentation period, where DM decreased (P <0.05) from 22 to 17%, OM from 96% to 95% and hemicellulose from 25.8 to 20.9% and the pH increased from 3.3 to 3.4. Titratable acidity and NDF and ADF levels had triple interaction between the studied factors. The treatment with 100 fermentation days without inoculant and 6% of cellulase showed the best response on sugarcane silage titratable acidity (21.6 ml). NDF, ADF and TDN contents were higher in the longer fermentation period (100 days) with addition of 6% cellulase without bacterial inoculant (44.9, 27.2 and 64.0% for NDF, ADF and TDN respectively). The highest potential DM degradability was at 100 fermentation days. The 3% cellulase concentration associated with the inoculant increased the potential DM degradability from 65.9 to 73.1% at 100 fermentation days. There was higher effective DM degradability and NDF degradability decreased in the cellulase inclusion treatments. The inoculant increased the rate of aerobic stability. There was double interaction of the cellulase x fermentation period, in which greater stability was at 30 days without cellulase addition. The addition of a bacterial inoculant or cellulase enzyme was efficient in improving the nutritional value of sugarcane silage, with better results when used independently.

Key words: degradability, fibrolytic enzyme, *L. plantarum*, *P. pentosaceus*

1. INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca internacionalmente por sua produção no setor agropecuário, com crescimento na produção de carne e leite. No entanto, a constância dos sistemas de produção de bovinocultura é comprometida por apresentar dois períodos climáticos bem definidos, verão úmido e inverno seco, sendo aproximadamente seis meses de período chuvoso e, seis meses de período seco com escassez de volumosos. No período da seca, o crescimento das pastagens é drasticamente reduzido.

Devido à escassez de forragens na seca faz-se necessário um planejamento nutricional para a produção de leite. Muitos produtores utilizam a cana-de-açúcar devido ao fato da mesma apresentar alta produção de massa por hectare durante o inverno. Porém, para a utilização da cana "*in natura*" existem desvantagens, dentre estas, questões de logística como necessidade de colheita diária ou pelo menos a cada dois dias, mudança de composição da cana ao longo do período de colheita e riscos de queimada ou geada. Por este motivo, a conservação pela ensilagem é uma opção que permite a colheita de todo o material de uma única vez e mantém constante seu valor nutricional.

No entanto, neste processo é necessário inibir a fermentação alcoólica, que não é desejável por gerar perda de energia e diminuição do consumo. A fim de se contornar os obstáculos do uso da cana-de-açúcar fresca e com o intuito de inibir a fermentação alcoólica e melhorar a digestibilidade da fração fibrosa, aditivos bacterianos e fibrolíticas podem ser utilizados objetivando promover fermentação anaeróbica com rápida queda do pH, reduzir a fração fibrosa de menor digestão, aumentar a degradabilidade e a estabilidade aeróbica da silagem.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes períodos de fermentação associados à inclusão de aditivo bacteriano ou enzima fibrolítica celulase no valor nutricional da silagem de cana-de-açúcar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O Brasil se destaca como maior produtor mundial de cana-de-açúcar, com produção de 728 milhões de toneladas na última safra (IBGE, 2016). Segundo Freitas et al. (2006), a facilidade de seu cultivo, a execução da colheita nos períodos de estiagem e o alto potencial de produção de matéria seca e energia por unidade de área torna essa cultura uma opção de grande interesse para a alimentação de bovinos.

A época de colheita, que coincide com a entressafra das pastagens a alta produtividade de massa verde (80 a 150 t/ha) e de nutrientes digestíveis totais (NDT de 15 a 20 t corte), faz da cana fresca uma opção competitiva para a pecuária por apresentar menor custo de produção em comparação às silagens de milho ou sorgo (Balieiro Neto et al., 2007).

A escolha das estratégias da utilização de cana-de-açúcar como forrageira no inverno depende do nível de produção dos rebanhos. Nos casos de rebanhos de produção média entre 3.000 e 4.500 kg leite/vaca/lactação, as estratégias que combinam cana-de-açúcar e pastagens podem ser as melhores opções (Rennó et al., 2008). No entanto, Corrêa et al. (2003) comprovaram que com dietas bem balanceadas vacas leiteiras produziram aproximadamente 30 kg de leite/vaca/dia mesmo usando 45% de cana-de-açúcar como volumoso.

A cana-de-açúcar, como volumoso, apresenta grande quantidade de carboidratos solúveis, que são rapidamente fermentados no rúmen. Porém, a fibra que também constitui porção considerável, apresenta baixa degradação ruminal, o que pode causar repleção ruminal e, conseqüentemente, redução no consumo. No entanto, pode ser utilizada em animais de alto desempenho, tanto para a produção de leite quanto para a produção de carne, se contornadas as limitações nutricionais, com os ajustes pertinentes nas dietas (Siqueira et al., 2012). Queiroz et al. (2008) relataram que o uso dessa cultura em sistemas de produção bovina intensivo e de grande escala tem aumentado e, conseqüentemente, houve aumento na demanda por novas tecnologias. Dentre as alternativas para facilitar sua utilização está o processo de conservação do forrageira pelo método de ensilagem.

2.1 Ensilagem de forrageiras

A ensilagem é um processo de conservação que compreende o armazenamento da forragem em condições de anaerobiose, objetivando o desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido láctico a partir de substratos como açúcares solúveis, ácidos orgânicos e compostos nitrogenados solúveis. Durante o processo ocorre diminuição do pH da massa ensilada, aumento de temperatura e nitrogênio amoniacal (Santos et al., 2010). Vários são os fatores que podem interferir na qualidade desta fermentação como, espécie vegetal utilizada, características físico-químicas da forragem, condições climáticas, condução das operações de ensilagem, extensão do período de conservação e manejo do fornecimento da silagem após a abertura do silo (Freitas et al., 2006).

Para uma fermentação anaeróbica adequada algumas características são indesejáveis na massa ensilada, como alta umidade no momento da colheita, alto poder tampão e baixo teor de carboidratos solúveis (Coutinho et al., 2015). A composição bromatológica da massa deve preencher alguns requisitos para confecção de uma boa silagem como: teor de matéria seca (MS) entre 30% a 35%, 3% no mínimo de carboidratos solúveis na matéria original e uma boa fermentação microbiana (Nussio et al., 2001).

O teor de umidade do material ensilado afeta o processo fermentativo no silo, atuando como barreira física à queda do pH, favorecendo a ocorrência de fermentações indesejáveis (butírica, acética, excessiva produção de NH_3), as quais, por sua vez, conduzem à menor qualidade da silagem (Cabral et al., 2002). De acordo com Patrizi et al. (2004) busca-se o predomínio de uma fermentação láctica sob condições de anaerobiose. Para que ocorra esta fermentação a forragem deve apresentar baixa capacidade tampão para facilitar a redução do pH, em virtude da produção de ácidos orgânicos durante o processo de fermentação (Siqueira et al., 2007).

De acordo com Muck (2010), o processo de ensilagem permite preservar a forragem controlando a atividade microbiana pela fermentação natural dos açúcares por bactérias ácido lácticas em condições anaeróbicas. Dois produtos da fermentação, os ácidos láctico e acético e o baixo pH resultante, inibem o crescimento de outros microrganismos anaeróbios. A fermentação deve também inibir leveduras e bactérias aeróbicas, mas o ambiente anaeróbico é essencial para

evitar a maior parte da deterioração como função do crescimento de microrganismos indesejáveis.

A conservação de forragem pela ensilagem, no entanto, leva frequentemente a perda de nutrientes e, eventualmente, essas perdas ocorrem ao longo do período de ensilagem, na forma de gases e efluentes. Entre os gases liberados, o gás carbônico é o principal e pode ser decorrente da respiração da planta, que utiliza o oxigênio residual e de infiltrações ou proveniente de bactérias anaeróbias, que realizam fermentações indesejáveis, e normalmente crescem em meios com pH mais elevado. Os efluentes têm maior ocorrência em silagens que apresentam teor de umidade acima de 75%, e deve ser evitado para não ocasionar maiores perdas no processo fermentativo, como o aumento da proteólise e o estabelecimento de bactérias do gênero *Clostridium* (Fernandes et al., 2016).

De acordo com Loures et al. (2005) e Zopollatto et al. (2009), no início do processo fermentativo ocorre oxidação de açúcares, mediante a respiração celular, atividade de enzimas oxidativas e a fermentação por microrganismos aeróbios. As enzimas também hidrolisam o amido e a hemicelulose em monossacarídeos que podem ser utilizados na fermentação láctica. Assim, ocorre proliferação de microrganismos que convertem carboidratos solúveis da forragem em dióxido de carbono e água, produzindo calor e, assim que o oxigênio e o carboidrato solúvel acabam, inicia-se então a fermentação anaeróbia.

Jobim & Nussio (2013) divide este processo fermentativo em quatro fases que se iniciam após o processo de vedação e terminam após abertura. Estas fases são:

1ª Fase – Fermentação aeróbia: pH 6,0 a 6,5 – Microrganismos aeróbios estão ativos transformando os carboidratos solúveis em CO₂ e H₂O e liberando calor. As enzimas da planta ensilada também estão ativas, catalisando processos respiratórios e proteolíticos, que ajuda a criar um ambiente anaeróbico no silo. Ocorre a morte dos tecidos da planta está fase termina quando o oxigênio dentro do silo é exaurido.

2ª Fase – Fermentação ácida: pH 3,8 a 5,0 – Microrganismos anaeróbios predominam a fermentação. As bactérias produtoras de ácido láctico se desenvolvem tornando-se predominantes, produzindo ácido láctico e outros ácidos. O ácido láctico contribui para a queda do pH e controle de microrganismos anaeróbios e anaeróbios

facultativos, que competem por carboidratos solúveis e torna a diminuição do pH mais lenta por produzir ácido acético que é mais fraco comparado ao láctico. A fase termina quando o pH está baixo o suficiente para inibir o crescimento das bactérias.

3ª Fase – Estabilidade em anaerobiose: Ocorre pouca mudança, somente a hidrólise ácida de carboidratos estruturais e de reserva são mantidos como resultado das atividades de enzimas ácido-tolerantes, esta hidrólise pode fornecer substratos para algumas espécies de leveduras, bacilos e clostrídeos sobreviverem em estado inativo.

4ª Fase – Aeróbia pós-abertura: Exposição da silagem ao oxigênio e atividades de microrganismos aeróbios que podem causar deterioração da silagem: leveduras, Bacilos, fungos e bactérias ácido acéticas, a atividade destes microrganismos será mais intensa quanto maior for a concentração de carboidratos solúveis, ácidos e proteínas o que resulta em aumento do pH e diminuição da digestibilidade. Por estes motivos os principais indicadores desta deterioração são a produção de calor e CO₂ devido a respiração, diminuição do ácido láctico e aumento do pH.

Em situações em que a gramínea não possui ou está num estágio em que suas características não favorecem a fermentação, recomenda-se a utilização de aditivos biológicos como inoculantes bacterianos e enzimas fibrolíticas. Sua utilização tem por objetivo inibir o crescimento de microrganismos aeróbicos como enterobactérias e clostrídios, estimular a fermentação láctica, reduzir o pH, reduzir as frações da FDN, FDA, celulose e hemicelulose e aumentar a disponibilidade de açúcares simples (Loures et al., 2005; Zopollatto, et al., 2009).

2.2 Silagem de cana-de-açúcar

O manejo da cana-de-açúcar fresca para fornecimento aos animais, normalmente é realizada no canavial onde é cortada diariamente conforme as necessidades do rebanho. Entretanto, esta prática de manejo impede a utilização em larga escala por sua dificuldade operacional. Esta limitação tem sido contornada com o uso da ensilagem, concentrando a mão-de-obra e reduzindo o trabalho e os deslocamentos diários de máquinas na propriedade (Freitas et al., 2006).

Para o processo de ensilagem, a cana é colhida toda de uma única vez facilitando e liberando a área antes do início das chuvas na propriedade, possibilitando crescimento mais uniforme da planta. Lopes & Evangelista (2010) citam também outras vantagens como o aproveitamento da cana no estágio de melhor valor nutritivo; a eliminação das sobras de cana que ficariam no campo pela falta de corte, tornando-se canas bisadas, de baixa qualidade e sujeitas ao acamamento, dificultando a colheita; possibilita também a realização de tratamentos culturais, como capina, adubações e controle com herbicidas, evitando perdas no campo.

Por seu elevado teor de carboidratos solúveis em torno de 40% da MS, a cana-de-açúcar é altamente susceptível à ação de leveduras (Balieiro Neto et al., 2007). Sabe-se que no ambiente anaeróbico do silo, as leveduras são capazes de gerar perdas significativas de matéria seca em razão da fermentação alcoólica (Queiroz et al., 2008). Na fermentação alcoólica realizada por leveduras, cada molécula de glicose fermentada produz duas moléculas de etanol, duas de dióxido de carbono e duas de água o etanol produzido causa grande perda energética da forragem, uma vez que é formado a partir da fermentação da glicose (Mendes et al., 2008).

Diferentemente de outras forrageiras tradicionalmente utilizadas para ensilagem, como milho e sorgo, a cana apresenta alto teor de carboidratos solúveis na forma de sacarose, um dissacarídeo constituído por glicose e frutose, favorecendo o desenvolvimento de leveduras durante a ensilagem. De acordo com Pedroso et al. (2005), nos primeiros 15 dias de fermentação da silagem de cana ocorre uma intensa produção de álcool, gerando um aumento de aproximadamente 10% no teor da FDN e FDA, e redução da digestibilidade da silagem.

As mudanças no desenvolvimento da fermentação de silagens devido à aplicação de aditivos podem alterar a composição final do alimento e afetar o consumo de matéria seca, assim como a digestibilidade de nutrientes (Neumann et al., 2011). De acordo com Santos et al. (2008) a não utilização de aditivos implica em um processo de fermentação caracterizado pelo elevado desaparecimento de carboidratos solúveis gerado pela alta produção de etanol. Fermentação alcoólica intensa causa declínio lento do pH final, ficando acima dos níveis considerados adequados para conservação da silagem (Pedroso et al., 2005).

2.3 Aditivos bacterianos

Os aditivos bacterianos são comumente agrupados em homofermentadores e heterofermentadores pelos produtos de fermentação de glicose. Os homofermentadores produzem 2 mols de ácido láctico a partir de um mol de glicose. Os heterofermentadores produzem um mol de ácido láctico, um mol de dióxido de carbono e um mol de etanol ou um mol de ácido acético a partir da glicose. Hoje em dia, existem três grupos de bactérias do ácido láctico: os homofermentadores que não conseguem fermentar as pentoses por falta de fosfoetolase, heterofermentadores facultativos que fermentam hexose como os homofermentadores, mas que podem fermentar pentoses e heterofermentadores que fermentam hexoses a uma gama de produtos. A maioria das bactérias de ácido láctico na silagem recai nas duas últimas categorias (Muck, 2010).

Com o intuito de melhorar o padrão de fermentação da silagem de cana-de-açúcar, diversos tipos de aditivos vêm sendo testados para inibir a população de leveduras reduzindo as perdas de matéria seca e do valor nutritivo da forragem produzida (Mendes et al., 2008). Os aditivos mais comuns em silagens de cana são bactérias produtoras de ácido láctico que buscam garantir a qualidade da fermentação no silo. O tipo padrão de bactéria de silagem comercializado contém uma ou mais espécies homofermentativas. *Lactobacillus plantarum* é o mais comum dentre as espécies utilizadas e tem cepas geralmente selecionadas para crescimento rápido e dominação da fermentação da silagem, assim como *Pediococcus* e *Enterococcus faecium* que também podem ser incluídas nestes produtos, (Muck, 2010).

São caracterizadas como homofermentativas pela sua taxa de fermentação mais rápida, menor proteólise, maior concentração de ácido láctico, menores teores de ácidos acético e butírico, menor teor de etanol e maior recuperação de energia e matéria seca (Zopollatto et al. 2009). Agem sobre a velocidade de redução e manutenção do pH, o que permite a preservação do material ensilado, minimiza perdas de nutrientes e inibe o crescimento de clostrídios (Rodrigues et al., 2002).

O *Lactobacillus plantarum* é uma bactéria que favorece a produção de ácido láctico, produto de alta constante de dissociação iônica que, conseqüentemente, leva a rápida redução do pH e a inibição das bactérias patogênicas (grupo coliforme e

Clostridia) proporcionando a diminuição das perdas de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) e preservando o valor nutritivo da massa ensilada (Patrizi et al., 2004).

Inoculantes bacterianos também surgem como alternativa para evitar perdas na fase de abertura do silo promovendo estabilidade aeróbica da silagem, pois quando aberto o silo é exposto à deterioração aeróbica, processo caracterizado por aumentos de temperatura, pH e oxidação dos produtos da fermentação. (Rodrigues et al., 2002).

2.4 Aditivos enzimáticos

Reis & Coan (2001) mencionam que muitos produtos à base de enzimas, misturas de celulases, hemicelulases e pectinases são usados com o propósito de reduzir o conteúdo de fibra das silagens aumentando a quantidade de açúcares solúveis disponíveis para a fermentação, o que resulta em aumento da produção de ácido láctico e abaixamento mais rápido do pH favorecendo o aumento da digestibilidade da matéria orgânica (MO) da forragem.

A maior parte das enzimas utilizadas como aditivos é produto da fermentação microbiana ou fúngica e atuam sobre um ou mais substratos disponibilizando açúcares simples como fonte de nutrientes para as bactérias fermentadoras. Sua utilização em gramíneas com elevados teores de matéria seca e com baixa concentração de açúcares solúveis, pode apresentar resultados positivos devido a liberação de açúcares provenientes da hidrólise da parede celular (Kung Jr & Muck., 1997).

Durante a degradação de substrato complexo, como a celulose, várias enzimas agem em associação. O primeiro passo para degradação de um substrato insolúvel parece ser a vinculação do complexo enzimático ou microrganismos ao substrato. Assim, a aderência é obrigatória para que ocorra a degradação dos componentes da planta. As enzimas adicionadas a silagem deveram agir de forma similar as bactérias que iniciam a digestão no rúmen, iniciando a digestão dos componentes estruturais da parede celular, o que cria sítios adicionais de digestão e a liberação de produtos que atraem as bactérias do rúmen aos sítios de digestão (Cysneiros et al., 2006).

A estrutura química dos componentes da parede celular ou FDN (celulose, hemicelulose e lignina) da silagem, determina a acessibilidade da fibra aos microrganismos ruminais, interferindo indiretamente na degradação e na FDN aproveitado pelos ruminantes (Martins et al., 2006). As enzimas fibrolíticas, extraídas de fungos ou bactérias, potencializam a degradação dos polissacarídeos estruturais (hemicelulose e celulose) e aumentam a taxa de degradação da fibra (Martins et al., 2007).

As enzimas celulasas ao degradar a celulose em glicose para ser usada na fermentação, leva a uma redução da fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) e as hemicelulasas degradam a hemicelulose em pentose, disponibilizando açúcares para o processo de fermentação e também reduzindo o teor de FDN; (Loures et al., 2005). De acordo com Lopes e Evangelista (2010) a hemicelulose pode servir de substrato para as bactérias fermentadoras sendo uma disponibilização extra de substrato, podendo garantir maior colonização do material por bactérias ácido-láticas, resultando em um produto final de melhor qualidade. Para a cana-de-açúcar isso é uma grande vantagem por apresentar frações da FDN e FDA de baixa digestibilidade.

A celulase, é composta por um complexo enzimático, cujas enzimas atuam sinergicamente e estão subdivididas em três classes: endoglucanases, que hidrolisa as ligações glicosídicas das cadeias de celulose produzindo novos terminais; celobio-hidrolases, responsáveis pela ação nos terminais levando à celobiose; e 1,4- β -D-glucosidades que hidrolisam a celobiose à glicose, (Ogeda & Petri, 2010) disponibilizando estes açúcares para os processos fermentativos.

Segundo Loures et al. (2005) a adição de enzimas fibrolíticas como aditivo nas silagens de capim tanzânia promoveu a redução da fração fibrosa. Santos et al. (2010) explica que a utilização destas enzimas na ensilagem aumenta a eficiência do processo fermentativo, fornecendo substratos aos microrganismos desejáveis, como os produtores de ácido lático. Mostrando que o uso de aditivos constitui ferramenta útil para a obtenção de silagens de cana-de-açúcar com melhor valor nutritivo (Pedroso et al., 2007).

2.5 Degradabilidade “*in situ*”

A técnica de degradabilidade “*in situ*”, para avaliação da degradação ruminal das principais frações que compõem os alimentos, tem sido muito utilizada nas pesquisas relacionadas com nutrição de ruminantes (Campos et al., 2006). De acordo com Assis et al. (1999) esta técnica possibilita obter informações importantes na avaliação de alimentos, como a taxa e o potencial de degradação ruminal de cada alimento este método oferece condições ótimas de temperatura, pH, tamponamento, substratos, enzimas para uma melhor degradação dos alimentos e conseqüentemente maior confiabilidade nos parâmetros obtidos.

Os procedimentos *in situ* são baseados em escalas finitas de tempo, assumindo-se intervalo temporal relativamente elevado de forma que as estimativas obtidas (resíduo indigerido) se aproximem do conceito assintótico (resíduo indigestível) devem ser utilizados tempos de incubação de 240 horas para obtenção de estimativas mais exatas das frações indigestíveis (Casali et al., 2008).

A quantificação da parede celular e a estimativa de sua degradabilidade poderão auxiliar os nutricionistas na formulação de dietas para ruminantes com mais acurácia (Assis et al., 1999).

2.6 Estabilidade aeróbica de silagem

Na abertura do silo, o ambiente anaeróbio responsável pela estabilidade da silagem passa a ser aeróbio neste momento organismos que estavam em dormência na ausência de oxigênio multiplicam-se rapidamente, promovendo intensa atividade metabólica, gerando calor, o acúmulo de temperatura após a abertura do silo é reflexo da intensidade de reações promovidas por fungos filamentosos, leveduras e bactérias aeróbias (Amaral et al., 2008).

As bactérias, leveduras, bolores e fungos podem ficar dormentes dentro do silo até que ele seja aberto e o ar entre novamente na massa ensilada. Esses microrganismos utilizam substratos derivados diretamente da forragem, ou derivados indiretamente da fermentação, e alteram as características qualitativas do material, provocando perdas de nutrientes do material (Balieiro Neto et al., 2009).

Valeriano et al. (2009) comparando a temperatura após abertura de silagens de cana-de-açúcar não inoculada e inoculada com cepas de *L. buchneri* e *L.*

plantarum, observou que a silagens mais estáveis em condições de aerobiose foram as inoculadas, com um aumento mais lento da temperatura em relação à silagem controle.

De acordo com Castro et al. (2006) as silagens que apresentam maior susceptibilidade à deterioração aeróbia são aquelas ricas em carboidratos solúveis e amido, como as de milho, ou aquelas em que a fermentação foi restringida pelo uso de aditivos e/ou pelo emurchecimento excessivo da forragem antes da ensilagem. Enquanto as silagens de cana-de-açúcar apresentam baixa estabilidade, por sua alta concentração de carboidratos residuais e de ácido lático, que são substratos para microrganismos deterioradores Valeriano et al., (2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí e *campus* Samambaia no período de julho de 2016 a maio de 2017. A variedade de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) utilizada foi a RB 85-5453. A colheita mecânica ocorreu no mês de julho de 2016, quando a variedade se encontrava apta para o corte, com teor de matéria seca (MS) de 25% e teor de sólidos solúveis no caldo de cana de 16 graus brix (Tabela 1).

Tabela 1. Composição bromatológica da cana-de-açúcar na colheita

Componente	Composição (% MS)
Matéria seca (%)	25,0
Matéria mineral (%MS)	3,0
Matéria orgânica (%MS)	97,0
FDN (%MS)	46,3
FDA (%MS)	23,3
PB (%MS)	2,7

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em triplicata, com esquema fatorial 2 x 3 x 2 sendo o primeiro fator 2 períodos de fermentação 30 e 100 dias, 3 doses de enzima celulase (0, 3 e 6%) em proporção de 1:1 celulose:celulase, e o último fator COM aplicação de inoculante bacteriano e SEM aplicação de inoculante bacteriano. O inoculante bacteriano utilizado foi o

Silobac® que continha $2,5 \times 10^{10}$ unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g) de *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*, cepas CH 5796 e 2354, com concentração de 2 g de Silobac® / 100 kg de cana-de-açúcar “*in natura*”, os aditivos foram aplicados diluídos em água e pulverizados manualmente.

Segue abaixo a tabela com as legendas dos tratamentos utilizadas para curva de degradação da matéria seca e curva de degradação ruminal do resíduo do FDN da silagem de cana de açúcar.

Tabela 2: Descrição dos tratamentos

Dia	<i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Pediococcus</i> <i>pentosaceus</i>	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	D30L0C0	D30L0C3	D30L0C6
	COM	D30L1C0	D30L1C3	D30L1C6
100	SEM	D100L0C0	D100L0C3	D100L0C6
	COM	D100L1C0	D100L1C3	D100L1C6

Para os minissilos foram utilizados baldes de PVC com capacidade de 5 L e tampas de encaixe adaptadas com válvulas tipo *Bunsen* para escape dos gases. No fundo dos baldes foram colocados 2 kg de areia seca para drenagem dos efluentes e uma tela de tecido de algodão (chita) para separação da areia do material ensilado, a cana foi picada em partículas de tamanho médio de 2cm por uma picadeira estacionária. A compactação foi manual com um soquete de madeira até atingir densidade média de 834kg/m³, após a compactação da forragem, os silos foram tampados e vedados com fita adesiva e cola semi secativa veda rosca, pesados e armazenados à temperatura ambiente.

No momento da ensilagem os minissilos foram pesados, identificados e após a colocação da areia e do tecido pesou-se novamente os componentes antes de adicionar o material a ser ensilado que foi compactado. Cada minissilo foi pesado separadamente sem a tampa. A pesagem final do minissilo vedado, incluiu minissilo de plástico, areia, tecido, silagem e tampa.

Após 30 e 100 dias de armazenamento em fermentação anaeróbica, os minissilos foram abertos o conteúdo foi removido e homogenizado, e então retirou-se duas amostras para determinação da acidez titulável com NaOH de 0,1N, conforme os parâmetros propostos por Silva & Queiroz (2002) e para pré-secagem em estufa à 65°C durante 72 horas. Posteriormente moeu-se, a amostra em moinho de faca tipo Willey com peneira de malha de 1 mm que foram armazenadas, para as posteriores análises de degradabilidade “*in situ*” da matéria seca e fibra em detergente neutro (FDN), determinação dos teores de matéria seca (MS) em estufa a 105°C por 15 horas, matéria mineral determinada através da incineração das

amostras em mufla a 600°C durante 4 horas, teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) conforme descrito por Silva & Queiroz (2002), fração da matéria orgânica calcula pela diferença da matéria seca da matéria mineral, a fração hemicelulose foi calculada pela diferença observada entre os teores da FDN e FDA. Os valores de pH foram determinados com potenciômetro *Beckman Expandomatic SS-2*.

Degradabilidade “*in situ*”

As análises foram realizadas na Universidade Federal de Goiás *campus* Samambaia, para o ensaio da degradabilidade “*in situ*” da MS e FDN, pesou-se 1g (variando as duas últimas casas) de amostra em sacos de TNT com porosidade de 50µ, com 5,0 x 5,0 cm de área útil (NOCEK, 1988) depois de devidamente lacrados, os sacos foram colocados em um saco maior contendo um peso de 2kg, e então foi preso a uma corda e imerso no conteúdo ruminal ancorado à cânula e inseridos no rúmen de duas vacas leiteiras mestiças, em duplicata, para cada horário de incubação, segundo metodologia descrita por Huntington & Givens (1995) . Foram adotados sete tempos de incubação: 0, 6, 12, 24, 48, 96 e 240 horas. A incubação foi realizada em ordem cronológica inversa, com a finalidade de retirar todos os sacos ao mesmo tempo, com exceção dos sacos do tempo zero, que não foram incubados, mas foram lavados juntamente aos demais, após período de incubação as amostras foram conduzidas ao Laboratório de Nutrição Animal. Os dados de degradabilidade “*in situ*” da MS e da FDN, foram obtidos pela relação da diferença de peso encontrada para cada componente, entre as pesagens efetuadas antes e após a incubação ruminal, e expressos em porcentagem

Para ajustamento dos dados na curva de degradação da MS foi utilizada a equação proposta por Orskov & McDonald (1979):

$DEG = a + b (1 - e^{-c \cdot t})$, em que:

DEG = degradabilidade acumulada do componente nutricional, após um tempo t; a = intercepto da curva de degradabilidade quando t = 0, correspondendo à fração solúvel (FS) do componente nutritivo analisado; b = degradabilidade potencial da fração insolúvel do componente nutritivo, que é degradado a uma taxa; c = taxa de degradação por ação fermentativa da fração b; t = tempo de incubação (h); a soma de a + b, corresponde a degradabilidade potencial, a degradabilidade máxima alcançada se o alimento permanecer por tempo indeterminado no rúmen.

Já a degradabilidade da FDN foi estimada utilizando-se o modelo de Mertens & Loften (1980):

$$R_t = B * e^{-ct} + I.$$

Após os ajustes das equações para degradação da FDN, procedeu-se à padronização de frações segundo a proposição de Waldo et al. (1972), conforme as equações:

$$b_p = b/(b+I) * 100; I_p = I/(b+I) * 100, \text{ em que:}$$

b_p = fração potencialmente degradável padronizada (%); I_p = fração indegradável padronizada (%); e b , I = como definidas anteriormente.

A degradabilidade efetiva (DE) da MS foi estimada conforme a equação (Orskov & McDonald, 1979):

$$DE = a + (b * c/c + k), \text{ em que:}$$

DE = degradabilidade ruminal efetiva do componente nutritivo analisado; a , b e c = como descritos anteriormente; k = taxa de passagem ruminal do alimento (%/h). Para o cálculo adotou-se as taxas de passagem de 2, 5 e 8% por hora, como sugerido pelo AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC (1993), onde os valores correspondem a animais em fase de manutenção, ganho de peso e de alta produção de leite, respectivamente.

Já para a DE da FDN utilizou-se o modelo (Waldo et al., 1972):

$$DE = B_p * c/(c+k), \text{ em que:}$$

B_p é a fração potencialmente degradável (%) padronizada; c e k = como definidas anteriormente.

O modelo utilizado para as análises bromatológicas, pH e acidez titulável foi em parcela subdividida considerando o efeito do inoculante bacteriano *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus* na parcela, da celulase na subparcela e período de fermentação na subsubparcela

O ajustamento dos dados ao modelo não-linear foi realizado pelo método iterativo de Gauss-Newton. A qualidade do ajustamento das equações não-lineares foi avaliada por intermédio do desvio-padrão assintótico (DPA) e do resíduo padronizado (RP). A comparação dos parâmetros das equações dos modelos de degradabilidade foi feita pelo teste de igualdade de parâmetros e identidade de modelos de regressão não lineares (Regazzi, 2003). A comparação de degradabilidade potencial e efetiva foi feita por análise descritiva. Os valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram obtidos por meio da equação descrita por

Cappelle et al. (2001) onde: %NDT = 91,6086 - 0,669233FDN + 0,437932 PB (R²=0,71; P<0,05).

Taxa de estabilidade aeróbica

Para a análises da taxa de estabilidade foi pesado 500 g de amostra de cada minissilo, colocadas em potes de plástico com capacidade de 2 litros, armazenados em estufa e adicionado um termômetro de mercúrio para cada balde. A temperatura média foi aferida a cada 12 horas durante a exposição aeróbia de 12 dias (288 horas). Analisou-se então a taxa de estabilidade aeróbia da silagem, considerando a temperatura máxima observada, dividida pelo tempo necessário para alcançá-la (Ruppel et al., 1995).

Todas as análises dos dados foram realizadas no programa SAS versão 9.0 (2002) a 5% de probabilidade ANOVA e pelo teste t.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na abertura dos minissilos, não foi observada ocorrência de bolores ou odor que indicassem sinais de fermentação indesejáveis e nem material decomposto no fundo. Não houve ($P < 0,05$) efeito do inoculante bacteriano *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus pentosaceus* ou da enzima celulase nas variáveis pH, matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), e hemicelulose (Tabela 3 e 4). No entanto, essas variáveis foram afetadas ($P < 0,05$) pelos períodos de fermentação (Tabela 3). A diminuição da matéria seca (22,3-17,3%) nos dois períodos indica que aos 30 dias a silagem de cana ainda não foi estabilizada, ou seja, houve fermentação anaeróbica onde os carboidratos solúveis e a hemicelulose (25,8 - 20,9%) foram utilizados para fermentação

Tabela 3. Variáveis analisadas da silagem de cana-de-açúcar SEM e COM *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus pentosaceus* e período de fermentação de 30 e 100 dias

Variável	<i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Pediococcus pentosaceus</i>		Valor P ¹	Dias		Valor P ¹
	SEM	COM		30	100	
	pH	3,4±0,01		3,4±0,01	0,327	
MS	19,6±0,16	20,0±0,17	0,7653	22,3±0,16	17,3±0,17	<0,001
MO	96,0±0,04	95,8±0,04	0,1641	96,0±0,037	95,8±0,04	0,0027
Hem.	23,5±0,49	23,2±0,42	0,3216	25,8±0,48	20,9±0,44	<0,001

¹ Teste F. MS: matéria seca total (%MN); MO: matéria orgânica (% MS); Hem: Hemicelulose (%MS);

Em condições anaeróbicas, as leveduras convertem açúcares simples como sacarose, glucose e frutose em etanol, CO₂ e H₂O. A sobrevivência destas leveduras é influenciada pela concentração de ácidos orgânicos estas são capazes de sobreviver em meio anaeróbico porem a presença de ácidos orgânicos como ácido acético e propiônico apresenta toxicidade a esses microrganismos.

Durante a ensilagem, os microrganismos capazes de crescer em meio anaeróbico (BAL, enterobacterias, clostrídios, alguns *Bacillus ssp* e leveduras) se desenvolvem e competem por nutrientes disponíveis. Assim as mudanças ocorridas nos primeiros dias após a ensilagem são críticas para o sucesso da fermentação subsequente. Em condições favoráveis, com o teor de MS ao redor de 30%, ambiente anaeróbico e presença de carboidratos solúveis, as BAL rapidamente acidificam o meio e os microrganismos indesejáveis (leveduras, clostrídeos, enterobactérias, fungos, bacilos e listeria) não são capazes de sobreviver, de tal maneira que o resultado final é a silagem com pH baixo e estável, Enterobacterias, clostrídios e leveduras utilizam os nutrientes existentes na massa ensilada transformando-os em produtos indesejáveis como etanol e butirato, aumentando assim as perdas de MS durante o processo de ensilagem. A partir da estabilização do processo fermentativo, a atividade das bactérias ácido lácticas cessa, enquanto leveduras continuam a influenciar as perdas de MS (Pedroso et al., 2005). A redução do pH não garante que a atividade dos microrganismos indesejáveis seja completamente inibida durante a ensilagem.

A diferença na matéria seca em diferentes períodos pode ter acontecido porque a silagem ainda não estabilizou aos 30 dias de fermentação. Mesmo com pH abaixo de 3,8, provavelmente ainda ocorreram reações de fermentação. A diminuição na concentração da hemicelulose pode ser indicador de que ainda ocorreram algumas reações após 30 dias de fechamento do minissilo (Tabela 3). A perda de MS é uma consequência inevitável no processo de ensilagem esta perda ocorre por respiração celular e metabolismo microbiano devido à redução no teor de carboidratos solúveis da forrageira e conseqüentemente concentração dos componentes fibrosos (Mc Donald et al., 1991).

Tabela 4. Variáveis analisadas da silagem de cana de açúcar com e sem adição de enzima celulase

Variável	Celulase			Valor P ¹
	0%	3%	6%	
pH	3,39±0,01	3,37±0,01	3,40±0,01	0,44
MS (%MO)	20,19±0,22	20,39±0,20	18,89±0,19	0,16
MO (%MS)	96,02±0,05	95,9±0,50	95,69±0,47	0,89
Hemicelulose (%MS)	26,05±0,65	22,64±0,51	21,37±0,53	0,21

¹Teste F. (P<0,05)

Houve efeito da celulase, inoculante bacteriano e período de fermentação para acidez titulável, FDN e FDA, tendo ocorrido ainda interação tripla entre os fatores (Tabela 5 e 6).

Tabela 5. Valores de acidez titulável (mL) da silagem de cana de açúcar sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum*+*Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase

Dia	<i>L. plantarum</i> + <i>P. pentosaceus</i>	Celulase ¹		
		0%	3%	6%
30	SEM	11,96 ± 0,56 aC	12,7 ± 0,41 aC	13,98 ± 0,62 aBC
	COM	12,6±0,41 bBC	14,23±0,41 aB	15,2±0,41 aB
100	SEM	13,86 ± 0,41 cAB	17,0 ± 0,41 bA	21,62±0,62 aA
	COM	14,34±0,56 abA	16,88±0,56 aA	13,41±0,43 bC

¹Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste t (P>0,05).

No período de fermentação de 30 dias, a inclusão do aditivo bacteriano e celulase (3 e 6%) contribuiu para melhor acidificação do meio, porém quando a silagem foi fermentada por 100 dias, o inoculante afetou a acidez apenas quando adicionada junto com 6% (Tabela 5). O tratamento com melhor qualidade quanto a acidez foi aos 100 dias de fermentação sem inoculante e com adição de 6% de celulase. A enzima fibrolítica promoveu maior taxa de fermentação anaeróbica devido a maior disponibilidade de substrato para as bactérias, aumentando assim o teor de ácido lático.

Tabela 6: Valores de FDN e FDA (%MS) da silagem de cana de açúcar sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase

		FDN ¹		
Dias	<i>L. plantarum</i> + <i>P. pentosaceus</i>	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	64,51±1,29 aA	56±0,96 bA	54,58±0,96 bA
	COM	57,63±0,96 aB	55,83±0,96 abA	53,36±0,96 bA
100	SEM	56,86±1,18 aB	47,99±0,96 bB	44,91±0,96 cC
	COM	52,35±0,96 aC	44,59±0,96 cC	49,40±0,86 bB

		FDA ¹		
Dias	<i>L. plantarum</i> + <i>P. pentosaceus</i>	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	37,98±0,74 aA	29,86±0,57 cA	32,09±0,57 bA
	COM	30,60±0,57 aB	29,78±0,57 aA	29,16±0,57 aB
100	SEM	31,46±0,70 aB	28,00±0,57 bB	27,17±0,57 bC
	COM	29,73±0,57 aB	26,09±0,57 bC	28,56±0,67 aBC

¹Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste t (P>0,05). MS: matéria seca total (%); FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido

No período de fermentação de 30 dias, a adição da enzima celulase reduziu a concentração da FDN com ou sem inoculante (Tabela 6). Os teores da FDA tiveram resposta semelhante, sendo o efeito mais acentuado também na ausência de inoculante. A adição de *L. plantarum* + *P. pentosaceus* também diminuiu a fração da FDN quando adicionada em ausência da enzima celulase. Na abertura dos silos aos 100 dias se observou valores da FDN e FDA menores e maior acidez titulável que no período de fermentação de 30 dias. Isto pode ter acontecido porque os processos fermentativos continuaram após os 30 dias. Sheperd (1995) observou aumento do teor de glicose na silagem de alfafa tratada com bactérias homofermentativas e

enzimas (celulase, amilase e pectinase), sugerindo que alguma hidrólise da parede celular da planta ocorreu durante o armazenamento prolongado, a degradação de celulose pela enzima pode ter influenciado a acidificação do meio disponibilizando a sua fração mais solúvel para a fermentação da silagem. Loures et al. (2005) citam que a adição de enzimas fibrolíticas pode intensificar o processo de fermentação anaeróbica da silagem, favorecendo a degradação de carboidratos estruturais da forragem, por fornecer substrato adicional para as bactérias. A redução da fração fibrosa FDN e FDA do volumoso é uma vantagem, por possibilitar aumento da ingestão e da digestão da MS (Cysneiros et al., 2006).

A utilização da enzima celulase na dosagem de 6% promoveu diminuição numérica da concentração da hemicelulose de 19% (26,05-21,37%). A hemicelulose sendo a fração mais solúvel da FDN pode ter sido utilizada como substrato na fermentação da silagem. De acordo com Nadeau et al. (2000) a hidrólise celulolítica das paredes celulares aumenta a concentração de carboidratos solúveis em silagens, estes carboidratos são utilizados como substrato pelas bactérias ácido lácticas (BAL), favorecendo a acidificação da silagem. KHOTA et al. (2016) trabalhando com *P. maximum* observou que a utilização da enzima celulase elevou o teor de ácido láctico, quando comparado com silagens não tratadas ou aditivadas com BAL e concluíram que a celulase pode melhorar a qualidade da silagem promovendo degradação das fibras, especialmente em gramíneas tropicais com baixa concentração de carboidrato solúvel.

Os parâmetros cinéticos da matéria seca e da FDN não sofreram efeito dos tratamentos (Tabela 7 e 8). A fração "a" que corresponde a prontamente disponível foi maior nas mesmas silagens que apresentaram menor concentração da FDN (Tabela 6) e maior acidez titulável,

Tabela 7: Parâmetros cinéticos da degradação "in situ" da matéria seca da silagem de cana de açúcar sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum*+ *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase

Parâmetros ^{1,2}				
a (%)				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	38,3	47,3	45,6
30	COM	43,7	46,7	47,2
100	SEM	41,1	50,2	53,3
100	COM	46,5	54,1	52,2
b (%)				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	24,8	21,7	19,5
30	COM	24,6	21,9	21,1
100	SEM	24,8	19,7	17,3
100	COM	23,8	19,0	18,7
c (%/h)				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	2,46	2,13	2,43
30	COM	2,53	2,47	2,4
100	SEM	2,4	2,13	2,22
100	COM	2,43	1,83	2,06

¹a = fração solúvel; b = fração insolúvel potencialmente degradável; c = taxa de degradação da fração b. ²Não houve diferença entre tratamentos pelo teste de igualdade de parâmetros e identidade de modelos de regressão não lineares (Regazzi, 2003).

A fração "I" indigestível foi maior nas silagens aditivadas (Tabela 8), isto pode ser explicado porque os aditivos atuaram na degradação da fração mais solúvel da FDN e que posteriormente foi utilizada na fermentação da silagem.

Tabela 8: Parâmetros cinéticos da degradação "in situ" da FDN da silagem de cana de açúcar sob efeito de período de fermentação e aditivados ou não com *Lactobacillus plantarum*+ *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase

Parâmetros ^{1,2}				
I (%)				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	61,8	60,5	65,2
30	COM	60,2	61,7	62,7
100	SEM	58,5	62,1	64,3
100	COM	55,5	56,1	62,6
b (%)				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	38,1	39,4	34,8
30	COM	39,8	38,2	37,3
100	SEM	41,5	37,8	35,7
100	COM	44,4	43,9	37,4
c (%/h)				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	2,35	2,19	2,41
30	COM	2,56	2,22	2,37
100	SEM	2,46	2,02	2,15
100	COM	2,41	1,38	

¹b = fração insolúvel potencialmente degradável; c = taxa de degradação da fração b I = fração indegradável. ²Não houve diferença entre tratamentos pelo teste de igualdade de parâmetros e identidade de modelos de regressão não lineares (Regazzi. 2003).

A degradabilidade potencial foi maior nas silagens tratadas com inoculante independente da adição ou não de celulase (Tabela 9). Isto pode ter ocorrido porque a fermentação continuou após 30 dias porque a disponibilização dos substratos se manteve. A concentração de 3% de celulase associada ao *L. plantarum* + *P. pentosaceus* foi o tratamento mais eficiente em aumentar a degradabilidade

potencial da MS (Tabela 9). A maior degradabilidade potencial foi aos 100 dias, o que pode ter acontecido porque a fermentação e disponibilização dos substratos continuou após 30 dias.

Tabela 9: Degradabilidade potencial *"in situ"* da matéria seca da silagem de cana de açúcar sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum*+ *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase

Degradabilidade Potencial da MS (%MS)				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	63,1	68,9	65,1
30	COM	68,3	68,6	68,3
100	SEM	65,9	69,9	70,5
100	COM	70,3	73,1	70,8

A degradabilidade efetiva da MS foi também afetada pelo inoculante (Tabela 10). No entanto, diferentemente da degradabilidade potencial, a adição de celulase também aumentou a percentagem da degradabilidade efetiva independentemente de sua dosagem (3% ou 6%).

Tabela 10: Degradabilidade efetiva "in situ" da MS de silagem de cana de açúcar sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum*+ *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase

Degradabilidade efetiva %; $k_p = 2\%/hora$ do MS				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	52	58,4	56,3
30	COM	57,4	58,8	58,7
100	SEM	54,6	60,4	62,4
100	COM	59,5	63,1	61,6

Degradabilidade efetiva%; $k_p = 5\%/hora$ do MS				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	46,5	53,7	52
30	COM	51,9	53,9	54
100	SEM	49,1	56,1	58,6
100	COM	54,3	59,2	57,6

Degradabilidade efetiva %; $k_p = 8\%/hora$ do MS				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	44,1	51,8	50,1
30	COM	49,6	51,9	52
100	SEM	46,8	54,4	57
100	COM	52	57,6	56

A maior degradabilidade efetiva da MS foi observada nas silagens com menores frações da FDN e FDA. Confirmando este resultado, observou-se que a degradação efetiva do FDN nestes mesmos tratamentos foi menor, o que pode ter ocorrido pelo fato de a fração mais solúvel da FDN ter sido disponibilizada para a fermentação no silo (Tabela 10 e 11). De acordo com Manginelli et al. (2005), o aumento nas perdas de matéria seca, devido principalmente a fermentação dos carboidratos solúveis, foi evidenciado pelas maiores concentrações da FDN e, pode indicar menor disponibilidade de substrato para ser fermentado no rúmen, levado à diminuição da degradabilidade efetiva da MS.

Tabela 11: Degradabilidade efetiva "in situ" da FDN de silagem de cana de açúcar sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum*+ *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase

Degradabilidade efetiva %; $k_p = 2\%/hora$ da FDN				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	20,6	20,6	19,0
30	COM	22,3	20,1	20,2
100	SEM	22,9	19,0	18,4
100	COM	24,3	17,9	19,4
Degradabilidade efetiva %; $k_p = 5\%/hora$ da FDN				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	12,2	12,0	11,3
30	COM	13,4	11,8	12,0
100	SEM	13,7	10,9	10,7
100	COM	14,4	9,4	11,3
Degradabilidade efetiva %; $k_p = 8\%/hora$ da FDN				
Dia	Lacto	Celulase		
		0%	3%	6%
30	SEM	8,6	8,4	8,1
30	COM	9,6	8,3	8,5
100	SEM	9,8	7,6	7,5
100	COM	10,3	6,5	8,0

As silagens aditivadas com celulase aos 100 dias tiveram os menores valores da FDN (44,59, 44,91%), o que pode ter acontecido porque a celulose hidrolisada em glicose foi utilizada como substrato na fase anaeróbica da da silagem. Esta fermentação da celulose afetou diretamente a degradabilidade da FDN. Khota et al. (2016) observaram que silagens tratadas com celulase apresentam conteúdo da FDN e FDA menores, comparados com as amostras sem enzima ou aditivadas com BAL.

O maior período de fermentação (100 d), a adição de inoculante e celulase o aumentaram o teor de NDT (Tabela 12). Embora uma maior degradação da parede celular com adição de celulase, tenha resultado numa menor degradabilidade da FDN como observado por Nadeau et al. (1996), como comentado anteriormente, a degradação mais intensa da celulose favoreceria a disponibilidade de glicose para

os microrganismos ruminais. Os melhores resultados foram observados quando os aditivos foram utilizados de forma independente. O que provavelmente acontece porque as enzimas são proteínas e podem ser utilizadas como fonte de nitrogênio para o crescimento da população de bactérias que compõem o inoculante.

Tabela 12: Valores de NDT (%) da silagem de cana de açúcar sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase

Dia	<i>L. plantarum</i> + <i>P.</i> <i>pentosaceus</i>	Celulase ¹		
		0%	3%	6%
30	SEM	43,66±0,65 bC	55,46±0,65 aC	55,35±0,85 aC
	COM	53,48±0,85 bB	55,53±0,65 abC	57,25±0,65 aC
100	SEM	55,83±0,79 cB	61,96±0,65 bB	64,02±0,65 aA
	COM	59,00±0,65 bA	64,04±0,65 aA	60,95±0,65 bB

¹Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste t (P>0,05).

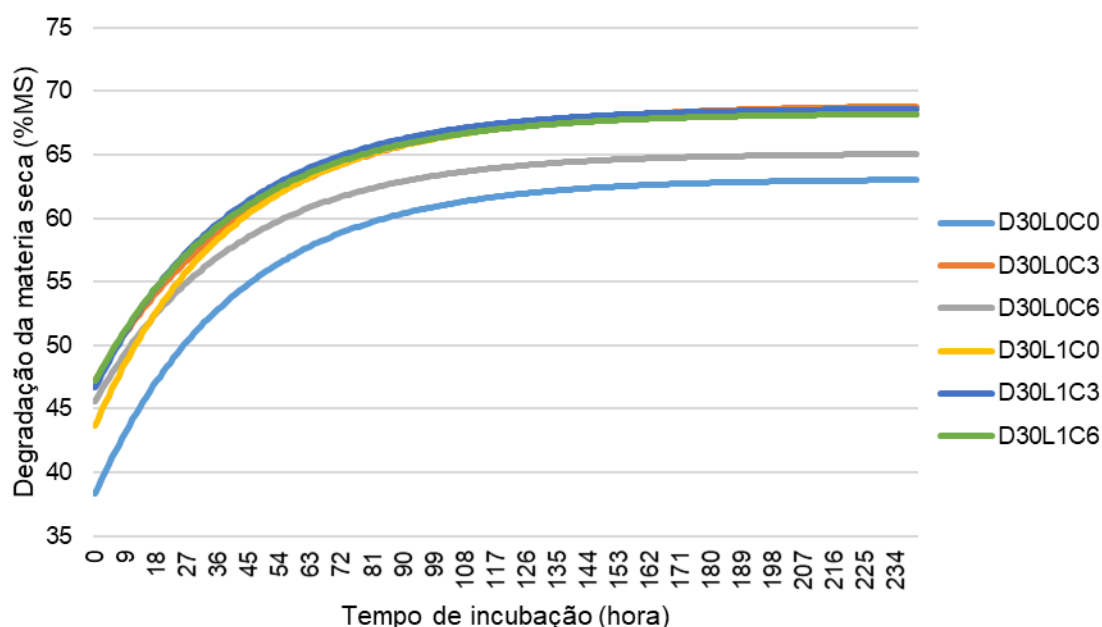


Figura 01: Curva de degradação da matéria seca da silagem de cana de açúcar no período de 30 dias de fermentação, em função do tempo sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase.

As silagens com período de vedação de 30 dias sem aditivo tiveram menor degradação ruminal da MS, houve um o pico da degradação com aproximadamente 50 horas e após as 72 horas de incubação a degradação começou a estabilizar (Figura 1). As silagens com adição de 3% de celulase tiveram maior degradação da MS.

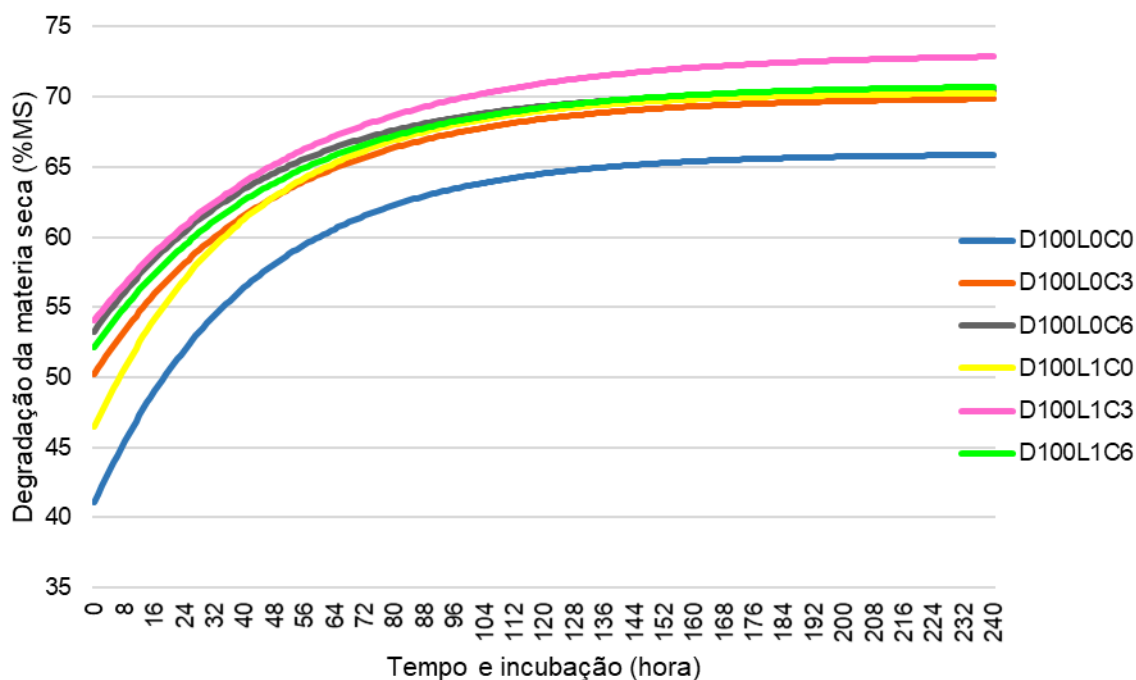


Figura 2: Curva de degradação da matéria seca da silagem de cana de açúcar no período de 100 dias de fermentação, em função do tempo sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum*+ *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase.

Silagens com período de vedação de 100 dias sem aditivo tiveram menor degradação da MS, a degradação do tratamento D100L1C0 atingiu o pico de degradação em menor tempo de incubação (32 horas). O tratamento D100L1C3, após 56 horas teve um pico na degradação superior aos outros tratamentos.

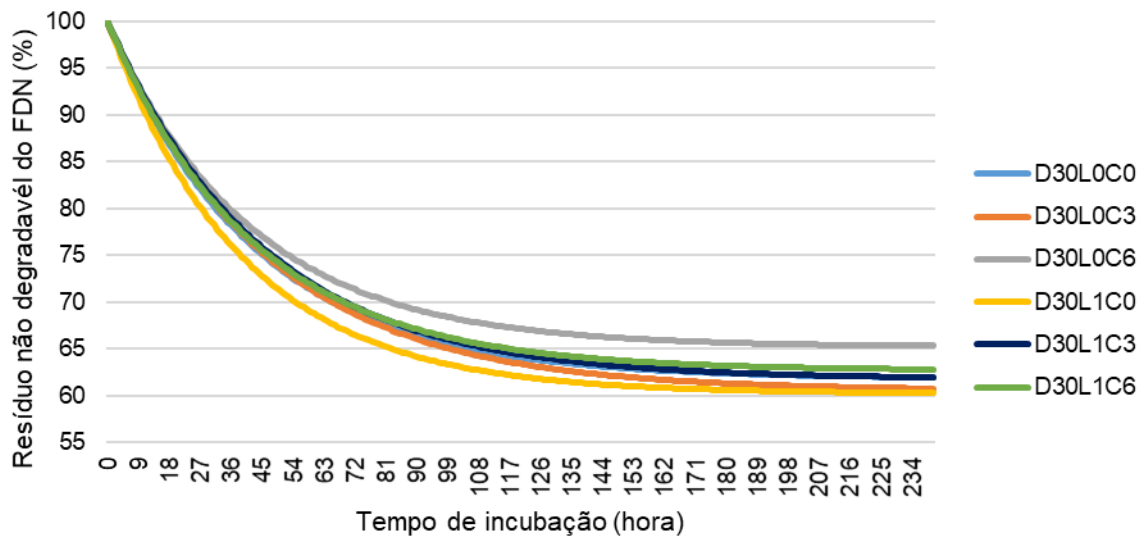


Figura 3: Curva de degradação ruminal do resíduo do FDN da silagem de cana de açúcar no período de 30 dias de fermentação, em função do tempo sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum*+*Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase.

O tratamento D30L1C0 teve maior degradabilidade da FDN até as 126 horas antes de se estabilizar como os outros tratamentos (Figura 3). O tratamento D30L0C6 pode ter tido menor degradação da FDN devido ao fato da fermentação na silagem ter consumido a fração mais solúvel da FDN (Figura 3).

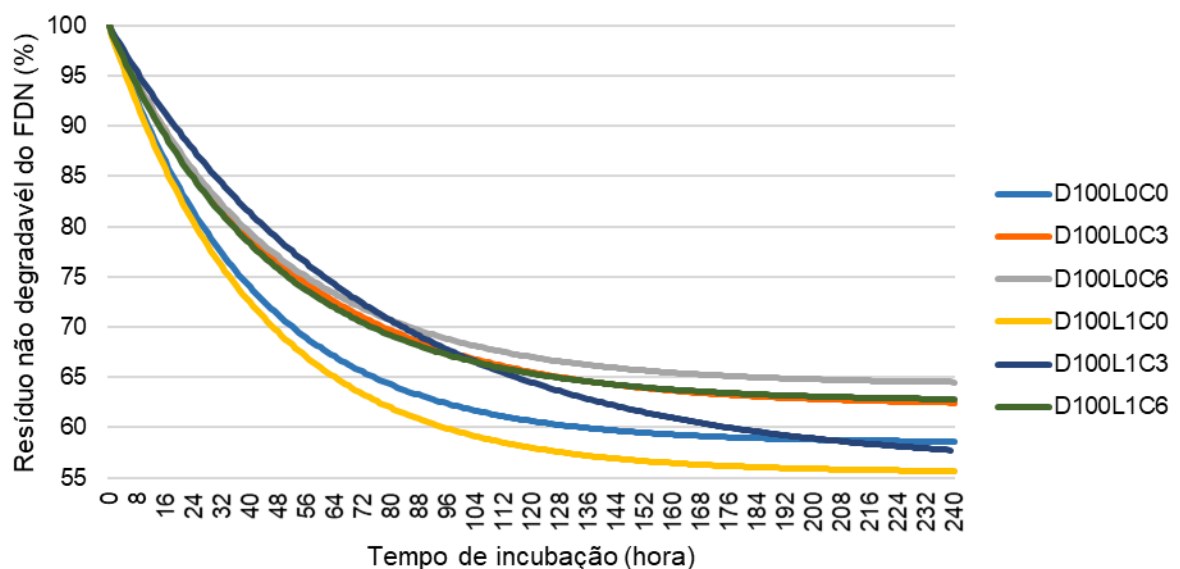


Figura 4: Curva de degradação ruminal do resíduo do FDN da silagem de cana de açúcar no período de 100 dias de fermentação, em função do tempo sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum*+ *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase.

O tratamento D100C1C0 teve maior degradabilidade da FDN ao igual que no mesmo tratamento no período de 30 dias (Figura 4). O tratamento D100L1C3 até as 112 horas de incubação apresentou menor degradabilidade da FDN e após este período de incubação ocorreu o pico da degradação.

Para taxa de estabilidade foi encontrada interação dupla entre celulase x período de fermentação e celulase x COM e SEM adição de *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus pentosaceus* (Tabela 13).

Tabela 13: Taxa de estabilidade aeróbica (°C/h) da silagem de cana de açúcar sob efeito de período de fermentação e aditivada ou não com *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus pentosaceus* e enzima celulase

Dia	Celulase ¹		
	0%	3%	6%
30	0,524± 0,018 c	0,63 ± 0,017 a	0,58 ± 0,016 b
100	0,80 ± 0,014 a	0,75 ± 0,020 b	0,72 ± 0,016 b
Valor-P ²	< 0,0001	0,0008	0,0001
Lactobacillus			
SEM	0,74 ± 0,016 b	0,85 ± 0,0226 a	0,69 ± 0,016 b
COM	0,58 ± 0,017 a	0,53 ± 0,017 b	0,61 ± 0,016 a
Valor-P ²	< 0,0001	< 0,0001	0,003

¹Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem estatisticamente pelo teste t (P>0,05)

²Valor-P < 0,05 médias diferem estatisticamente pelo teste T

A melhor taxa de estabilidade, considerando períodos de fermentação e doses da enzima celulase, foram nas silagens de 30 dias sem celulase, este resultado pode ser atribuído a menor quantidade de substrato disponível para as bactérias aeróbicas fermentarem após a abertura. Por outro lado, a taxa de estabilidade com inoculante teve melhor resultado comparada a silagem sem aditivos.

5. CONCLUSÃO

A adição dos aditivos foi eficiente em melhorar o valor nutricional da cana-de-açúcar, com melhor resultado quando usados de forma independente. A hidrólise da parede celular pela adição de enzima celulase resultou em menor degradabilidade da fibra e maior degradabilidade da MS. No entanto, a queda da degradabilidade da FDN não diminuiu na mesma proporção o valor energético da cana ensilada, houve aumento do NDT nas silagens tratadas com enzima. A utilização do inoculante também afetou a degradabilidade da MS e FDN, aumentou o NDT e melhorou a estabilidade da silagem de cana.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSIS, M. A., DOS SANTOS, G. T., CECATO, U. Degradabilidade in situ de gramíneas do gênero *Cynodon* submetidas ou não a adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 21, n. 1, p. 657-663, 1999.
- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. 1993. Energy and protein requirements of ruminants. Wallingford: **Commonwealth Agricultural Bureaux International**. 159p.
- BALIEIRO NETO, G.; SIQUEIRA, G. R.; REIS, R. A.; et al. Óxido de cálcio como aditivo na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1231-1239, 2007.
- BALIEIRO NETO, G.; FERRARI JUNIOR, E.; NOGUEIRA, J. R.; et al. Perdas fermentativas, composição química, estabilidade aeróbia e digestibilidade aparente de silagem de cana-de-açúcar com aditivos químico e microbiano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 6, p. 621-630, 2009.
- CABRAL, L. D. S. U., VALADARES FILHO, S. D. C. U., DETMANN, E. U.; et al. Cinética ruminal das frações de carboidratos, produção de gás, digestibilidade in vitro da matéria seca e NDT estimado da silagem de milho com diferentes proporções de grãos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2002.
- CAMPOS, P. R. S. S., VALADARES FILHO, S. C., CECON, P. R. Comparative study of ruminal degradation kinetics of tropical forages in cattle and sheep. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1181-1191, 2006.
- CAPPELLE, E. R., VALADARES FILHO, S. D. C., SILVA, J. D. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1837-1856, 2001.
- CASALI, A. O., DETMANN, E., VALADARES FILHO, S. D. C. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 335-342, 2008.

- CASTRO, F. G. F., NUSSIO, L. G., HADDAD, C. M. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-tifton 85 (*Cynodon* sp.) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 2, p. 358-371, 2006.
- CORRÊA, C. E. S.; PEREIRA, M. N.; OLIVEIRA, S. G. D.; et al. Performance of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 4, p. 621-629, 2003.
- COUTINHO, J. D.O, ATHAYDE, A. A. R., RODRIGUES, L. M.; et al. Efeito de aditivo em silagens de leguminosas forrageiras. **Ciência et Praxis** v. 8, n. 15, p. 53-57, 2015.
- CYSNEIROS, C. D. S. S.; FRANCO, G. L.; ULHOA, C. J.; et al. Efeito de enzimas fibrolíticas sobre a composição química dasilagem de milho. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 4, p. 339-348, 2006.
- FERNANDES, G. F.; EVANGELISTA, A. F.; BORGES, L. S. Potencial de espécies forrageiras para produção de silagem: revisão de literatura. **Revista Eletrônica Nutri Time**, Vol. 13, n. 3, p. 4652-4656, maio/junho de 2016.
- FREITAS, A. W. D. P.; PEREIRA, J. C.; ROCHA, F. C.; et al. Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo da colheita de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2006.
- HUNTINGTON, J.A.; GIVENS, D.I. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. **Nutricional Abstracts and Reviews (Series B)**, v.65, n.2, p.63-93, 1995.
- JOBIM, C. C.; NUSSIO, L.G. Princípios básicos da fermentação na ensilagem. In: REIS, R. A.; BERNARDES, T. F.; SIQUEIRA, R. G. Forragicultura: **Ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros**. Jaboticabal: Maria de Lourdes Brandel, 2013. p. 656 – 657.
- KHOTA, W.; PHOLSEN, S.; HIGGS, D.; et al. Natural lactic acid bacteria population of tropical grasses and their fermentation factor analysis of silage prepared with cellulase and inoculant. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 12, p. 9768-9781, 2016.
- KUNG JR., L.; MUCK, R.E. Animal response to silage additives. In: Silage : fieldnto feedbunk. NRAES-99. Hershey: North America Conference, Ithaca: Northeast Reg. Agric. Eng. Serv., Coop. Ext., 1997. p.200-210

- LOPES, J.; EVANGELISTA, A. R. Características bromatológicas, fermentativas e população de leveduras de silagens de cana-de-açúcar acrescidas de ureia e aditivos absorventes de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 5, p. 984-991, 2010.
- LOURES, D. R. S.; NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. D. F.; et al. Efeito de enzimas fibrolíticas e do teor de matéria seca em silagens de capim-tanzânia sobre os parâmetros ruminais, o comportamento ingestivo e a digestão de nutrientes, em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 3, p. 736-745, 2005.
- LOURES, D. R. S.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; et al. Composição bromatológica e produção de efluente de silagens de capim tanzânia sob efeitos do emurchecimento, do tamanho de partícula e do uso de aditivos biológicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.726-735, 2005.
- MANGINELLI, S., DE ALMEIDA MAGALHÃES, V. J., & RODRIGUES, P. H. M. Inoculação Microbiana da Alfafa para Silagem sobre a Digestibilidade Total e Ruminal em Bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 3, p. 926-933, 2005.
- MARTINS, A. D. S.; VIEIRA, P. D. F.; BERCHIELLI, T. T.; et al. Consumo e digestibilidade aparente total em bovinos sob suplementação com enzimas fibrolíticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 5, p. 2118-2124, 2006.
- MARTINS, A. D. S.; VIEIRA, P. D. F.; BERCHIELLI, T. T.; et al. Degradabilidade *in situ* e observações microscópicas de volumosos em bovinos suplementados com enzimas fibrolíticas exógenas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 1927-1936, 2007.
- MENDES, C. Q.; SUSIN, I.; PIRES, A. V.; et al. Desempenho, parâmetros da carcaça e comportamento ingestivo de cordeiros alimentados com cana-de-açúcar ensilada ou *in natura*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 733-740, 2008.
- MERTENS, D.R ; LOFTEN, J.R. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. **Journa of Dairy Science**, v.63, p.1437-1446, 1980.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Marlow: Chalcombe, 1991. 340p.

- MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 183-191, 2010.
- NADEAU, E. M. G., BUXTON, D. R., LINDGREN, E., & LINGVALL, P. Kinetics of cell-wall digestion of orchardgrass and alfalfa silages treated with cellulase and formic acid¹, 2. **Journal of dairy science**, v. 79, n. 12, p. 2207-2216, 1996.
- NADEAU, E. M. G., BUXTON, D. R., RUSSELL, J. R.; et al. Enzyme, Bacterial Inoculant, and Formic Acid Effects on Silage Composition of Orchardgrass and Alfalfa¹, 2. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1487-1502, 2000.
- NEUMANN, M.; OLIBONI, R.; OLIVEIRA M. R.; et al. Chemicals additive used in silages. **Applied Research & Agrotechnology**, [S.l.], v. 3, n. 2, p. 187-208, sep. 2011.
- NOCEK, J.E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2051-2069, 1988
- NUSSIO, L. G., CAMPOS, F. D., & DIAS, F. N. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. **Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas**, v. 1, p. 127-145, 2001.
- OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1549-1558, 2010.
- ORSKOV, E.R.; Mc DONALD, T. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agriculture Science**, v.92, n.2, p.499-503, 1979.
- PATRIZI, W. L.; MADRUGA JÚNIOR, C. R.; MINETTO, T. P.; et al. Efeito de aditivos biológicos comerciais na silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 392-397, 2004.
- PEDROSO, A. D. F., NUSSIO, L. G., PAZIANI, S. D. F. Dinâmica da fermentação e da microflora epífita em silagem de cana-de-açúcar. **Scientia Agrícola**, v. 62, n. 5, p. 427-432, 2005.
- PEDROSO, A. D. F.; NUSSIO, L. G.; LOURES, D. R. S.; et al. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. Embrapa Pecuária Sudeste-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2007.

- QUEIROZ, O. C. M.; NUSSIO, L. G.; SCHMIDT, P.; et al. Silagem de cana-de-açúcar comparada a fontes tradicionais de volumosos suplementares no desempenho de vacas de alta produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 358-365, 2008.
- REGAZZI, A. J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. **Ceres**, v. 50, n. 287, 2003.
- REIS, R. A.; COAN R.M. Produção e utilização de silagens de gramíneas. In: BUTOLO, J. E. et al. (ed.). III Simpósio Goiano Sobre Manejo e Nutrição De Bovinos, Goiânia, 2001. **Anais...** Goiânia: CBNA, 2001. p. 91-120.
- RENNÓ, F. P.; PEREIRA, J. C. Eficiência bioeconômica de estratégias de alimentação em sistemas de produção de leite. 1. Produção por animal e por área. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 743-753, 2008.
- RODRIGUES, P. H. M.; SENATORE, A. L.; ANDRADE, S. T. D.; et al. Efeitos da adição de inoculantes microbianos sobre a composição bromatológica e perfil fermentativo da silagem de sorgo produzida em silos experimentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 6, p. 2373-2379, 2002.
- RUPPEL, K.A.; PITT, L.E.; GALTON, D.M. Bunker silo management and its relationship to forage preservation on dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.1, 1995.
- SANTOS, M. C.; NUSSIO, L. G.; MOURÃO, G. B.; et al. Influência da utilização de aditivos químicos no perfil da fermentação, no valor nutritivo e nas perdas de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 9, p. 1555-1563, 2008.
- SANTOS, M.V.F.; CASTRO, A. G. G.; PEREA, J.M.; et al. Fatores que afetam o valor nutritivo de silagens de forrageiras tropicais. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, p. 25-43, 2010.
- SHEPERD, A. C. Additives containing bacteria and enzymes for alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, V. 78, n. 3, p. 565-572, 1995.
- SIQUEIRA, G. R., REIS, R. A., SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 2000-2009, 2007.

- SIQUEIRA, G. R.; ROTH, M. D. T. P.; MORETTI, M. H.; et al. Uso da cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 4, 2012.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3ª ed. Viçosa, MG: UFV, 2002.
- SILVA, A. V.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. D. C.; et al. Consumo e digestibilidades dos nutrientes em bovinos recebendo dietas contendo silagens de milho e sorgo, com e sem inoculante microbiano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 6, p. 2469-2478, 2006.
- VALERIANO, A. R., PINTO, J. C., ÁVILA, C. L. D. S. Efeito da adição de *Lactobacillus sp.* na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 6, p.1009-1017, 2009.
- WALDO, D.R.; SMITH, L.W.; COX, E.L. Model f cellulose disappearance from the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.55, p.125-129, 1972.
- ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J. L. P.; NUSSIO, L. G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, Suplemento Especial, p.170-189, 2009.